



**NOTIFICACIÓN SOBRE ACTIVIDADES DE UTILIZACIÓN CONFINADA DE
ORGANISMOS MODIFICADOS GENÉTICAMENTE**

I. INFORMACIÓN GENERAL

1. Responsables de la actividad

a. Entidad

Nombre: **Instituto de Parasitología y Biomedicina López-Neyra**

Dirección postal: **Avd/Conocimiento, 17-Armilla; CP: 18016-Granada**

b. Representante legal de la entidad

Nombre y apellidos: **Fuencisla Matesanz del Barrio**

NIF: **13114121G**

Cargo: **Directora**

Tel: **958181668**

Correo electrónico: **direccion.ipbln@csic.es**

c. Responsable científico de la actividad

Nombre y apellidos: **Dra. María del Carmen Thomas Carazo**

NIF: **24225512A**

Cargo: **Investigador Principal**

Tel: **+34 958181662**

Correo electrónico: mcthomas@ipb.csic.es

d. Responsable de bioseguridad de la instalación donde se realizará la actividad

Nombre y apellidos: **Fuencisla Matesanz del Barrio**

NIF: **13114121G**

Cargo: **Directora**

Tel: **958181668**

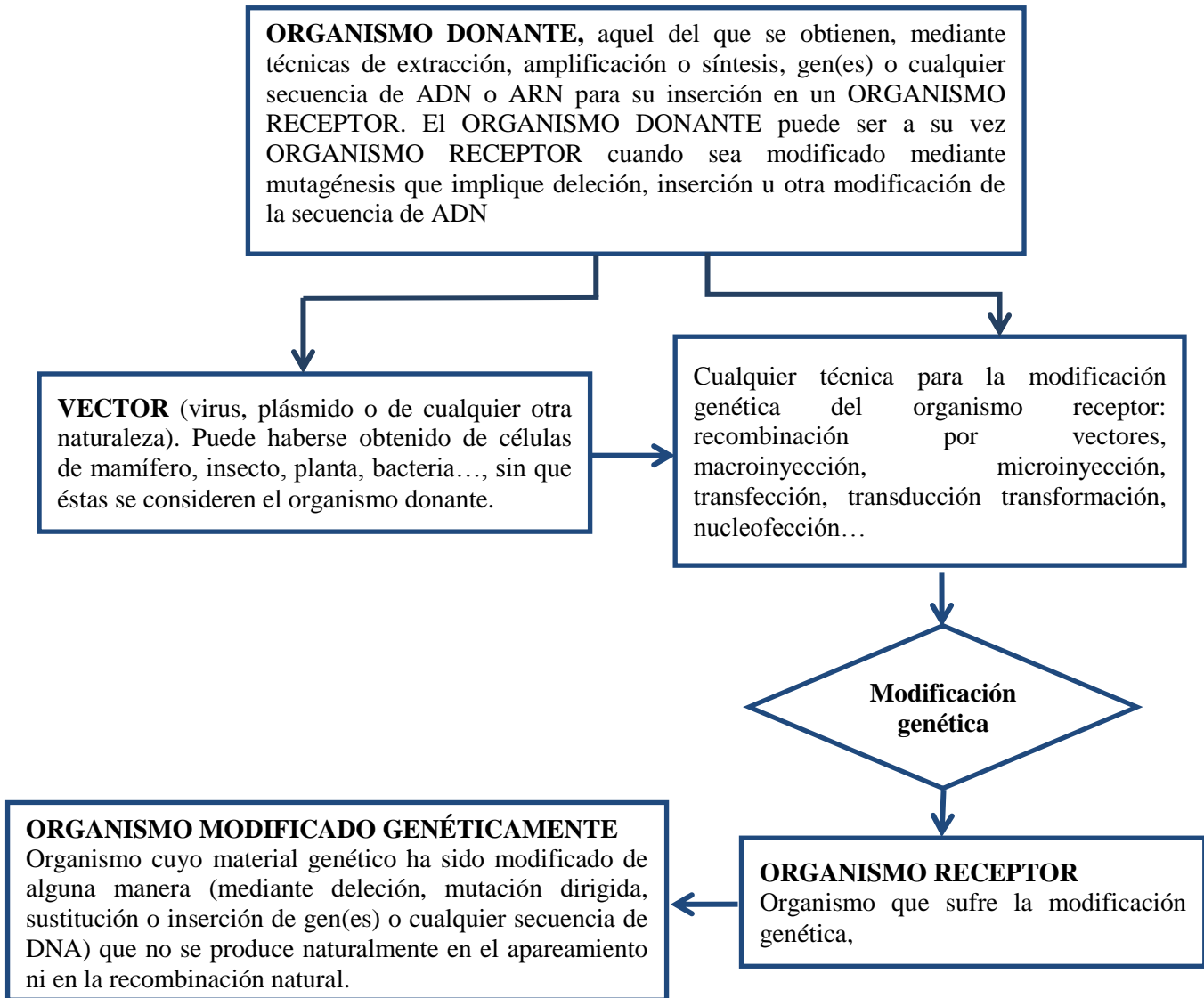
Correo electrónico: segbiologica@ipb.csic.es, direccion.ipbln@csic.es

e. Indicar cuál de los anteriores actuará como persona de contacto:

segbiologica@ipb.csic.es



PROCESO GENERAL PARA LA OBTENCIÓN DE UN OMG A EFECTOS DE NOMENCLATURA:





II. DESCRIPCIÓN DE LA ACTIVIDAD:

1. Debe señalarse si para la ejecución de esta actividad se recibe financiación del Plan Nacional de Investigación Científica, Desarrollo e Innovación Tecnológica. Esta información es necesaria para determinar si la actividad se encuentra dentro del supuesto del artículo 3.2.b) de la Ley 9/2003 y, por lo tanto, la competencia recae en la Administración General del Estado.

SI NO

Si la respuesta a la pregunta anterior es **SI**, debe justificarlo especificando¹:

- Nombre de la convocatoria:

Proyectos de Excelencia PAIDI 2020-convocatoria 2021. “Control de la leishmaniosis: perfil funcional, fenotípico y de expresión génica de la respuesta inmunológica celular asociada al control de la infección por *Leishmania infantum*”.

- Referencia del Proyecto y referencia IP del mismo:

Referencia: ProyExcel_00852. IP: MC Thomas y M.C. López.

- Organismo financiador:

Junta de Andalucía. 12/2022-12/2025.

Otro tipo de financiación²

2. Instalación donde se va a desarrollar la actividad (si la instalación no está autorizada, cumplimente el Formulario Parte B):

- Número de referencia de la notificación de la instalación (A/ES/./I-..):

A/ES/19/I-17

- Fecha de autorización de la instalación:

20-08-19

Si el OMG no se genera en la instalación³:

- Nombre de la instalación de origen del OMG:

- Número de referencia de la notificación de la actividad en el caso de que se realice en España (A/ES/./../..)

¹TASAS

Están exentos del pago de la tasa los casos en los que se cumplan dos requisitos, que la actividad se realice en el marco de los Planes Estatales de Investigación Científica y Técnica y de Innovación; y que se desarrolle por una institución, ente u órgano público.

²Se deberá aportar la información que permita verificar esta circunstancia.

³Debe tenerse en cuenta que, si los OMG proceden de otra instalación española, ésta deberá haber cumplido con los requisitos establecidos en la legislación española de OMG.



- Número de referencia de la notificación de la instalación en el caso de que se ubique en España (A/ES/./I-..):

- Explicar cómo se realiza el transporte del OMG desde la instalación de origen teniendo en cuenta la legislación aplicable (especificar tipo de transporte, manejo y embalaje, documentación de acompañamiento e identificación o/y etiquetado)⁴:

3. Finalidad de la actividad:

Transfección (electroporación) de la forma promastigote no infectiva de *Leishmania infantum* con construcciones que portan genes reporteros como el gen codificante de luciferasa u otros, como, por ejemplo, proteína verde fluorescente (*GFP*; *Green Fluorescent Protein*). La expresión de estos reporteros (luciferasa o *GFP*) en promastigotes de *L. infantum* permitirá analizar la capacidad de la secuencia Pr77 de *L. infantum*, clonada corriente arriba del gen reportero, de activar la transcripción génica de un gen reportero.

4. Clasificación de la actividad:

(Para la clasificación del tipo de riesgo de las operaciones se seguirá el procedimiento establecido conforme al artículo 4 y el anexo III de la Directiva 2009/41/CE del Parlamento Europeo y del Consejo, de 6 de mayo, relativa a la utilización confinada de microorganismos modificados genéticamente, y la Decisión de la Comisión 2000/608/CE, de 27 de septiembre, relativa a las Notas de orientación para la evaluación del riesgo).

Tipo 3

Tipo 4

III. INFORMACIÓN RELATIVA A LA OBTENCIÓN DEL OMG

1. Organismo receptor del cual deriva el OMG:

Células humanas/primates Detallar las líneas celulares:

Células: otras Detallar las líneas celulares:

Animal

⁴ Legislación vigente que afecta al transporte de OMG:

- (ADR) Clase 6.2 (Materias infecciosas) del Acuerdo Europeo de Transporte Internacional de Mercancías Peligrosas por Carretera y principales modificaciones.
- Reglamento (CE) N° [1/2005](#) del Consejo, de 22 de diciembre de 2004, relativo a la protección de los animales durante el transporte y las operaciones conexas y por el que se modifican las Directivas [64/432/CEE](#) y [93/119/CE](#) y el Reglamento (CE) N° [1255/97](#). Ley 32/2007, de 7 de noviembre, para el cuidado de los animales, en su explotación, transporte, experimentación y sacrificio (BOE núm. 268, 8.11.2007)
- Reglamento (CE) N° [1946/2003](#) del Parlamento Europeo y del Consejo, de 15 de julio de 2003, relativo al movimiento transfronterizo de organismos modificados genéticamente [Diario Oficial L 287 de 5.11.2003].
- Artículo 18.2.c del Protocolo de Cartagena sobre Bioseguridad. Documentación acompañamiento en el movimiento transfronterizo: <https://bch.cbd.int/protocol/>
- [Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances](#) Edición bianual de la OMS



- Planta
- Bacteria
- Hongo
- Virus
- Protozoos

-Especificar el nombre científico y común:

Leishmania infantum

a. Descripción de los métodos de identificación y aislamiento.

- i) Técnicas de aislamiento: **En nuestro caso, se cultivará la forma promastigote (NO INFECTIVA) de *L. infantum* en medio RPMI modificado y suplementado con 10% de suero bovino fetal inactivado, a 25-26°C.**
- ii) Técnicas de identificación: **Observación directa del parásito mediante microscopio. Examen microscópico del parásito, identificación y localización subcelular de proteínas mediante inmuno-transferencia (Western-blot) e inmunofluorescencia indirecta (IFI), Amplificación de fragmentos de DNA correspondientes a genes constitutivos mediante PCR y qPCR, Análisis de la expresión génica de genes constitutivos y de mensajeros de luciferasa mediante RT-qPCR y Northern-blot.**
- iii) Marcadores genéticos: **(no se van a emplear ya que la cepa a usar está ya tipada y que lleva décadas en cultivo). Genes constitutivos como rDNA (18S y 24S), β -tubulina, gen que codifica para el RNA del *spliced leader* (SL).**
- iv) Marcadores fenotípicos: **Forma promastigote (NO INFECTIVA): alargado (15-40x3 micras) y con el kinetoplasto localizado anteriormente al núcleo, desde donde emerge el flagelo. Es la forma replicativa en medio de cultivo.**
- v) Estabilidad genética: **Estable**

b. La cepa/línea celular receptora: ¿está libre de agentes biológicos contaminantes?

SI

– Especificar cómo se sabe que está libre de agentes biológicos contaminantes.

Se trata de cultivos puros identificados mediante examen microscópico.

NO

– Especificar si se conocen o se sospecha cuáles pueden ser.

c. Modificación genética anterior:

SI

– Describir:

– Cambios en virulencia, patogenicidad, tropismo, toxicidad, otros efectos.



NO

- d. Se considera patógeno este organismo, vivo o muerto, y/o sus productos intra/extracelulares (Asignar grupo de riesgo conforme al anexo II de Real Decreto 664/1997 tras evaluación del riesgo específica):

Según la clasificación en la EU es GRUPO 3 (Directiva 2000/54/CE): Cabe resaltar que la forma del parásito que se cultivará en las instalaciones de nuestro centro será la forma promastigote (NO INFECTIVA). Es el agente etiológico de la Leishmaniasis Visceral (llamada “kala-azar” en la India y es la especie responsable de leishmaniosis canina y humana en España. Es una enfermedad con un período de incubación de dos a seis meses, y límites de 10 días a varios años. Al comienzo de la enfermedad los síntomas son inespecíficos como anorexia, pérdida de peso y fiebre intermitente o continua. Posteriormente, se produce la diseminación del parásito por todo el sistema reticuloendotelial (hígado, bazo, médula ósea y ganglios linfáticos), apareciendo los síntomas típicos de la enfermedad como fiebre continua o intermitente (2 picos diarios), hepatoesplenomegalia, linfadenopatía generalizada o localizada y a veces pigmentación grisácea de la piel (fiebre negra o kala-azar). La mortalidad en pacientes no tratados supera el 95%. Pueden aparecer lesiones dérmicas secundarias al kala-azar después de una aparente curación de la enfermedad sistémica.**

Algunas cepas de *L. infantum* también pueden producir Leishmaniasis Cutánea.

<https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/leishmaniasis>

SI

Para:

- | | |
|----------|-------------------------------------|
| Humanos | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Animales | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Plantas | <input type="checkbox"/> |
| Otros | <input type="checkbox"/> |



– Posibles efectos alérgicos y/o tóxicos (describir):

No se han descrito efectos alérgicos o tóxicos.

NO

e. En el caso de cepas no virulentas de especies patógenas: ¿es posible excluir la reversión a la patogenicidad?

SI NO

f. Experiencia previa adquirida en relación con la seguridad en la utilización del organismo receptor:

El laboratorio y su personal han adquirido durante numerosos años una dilatada experiencia en el manejo y trabajo en las condiciones de seguridad, contención y destrucción de dicho organismo.

g. Información sobre la capacidad de supervivencia y de reproducción en el medio ambiente:

i) ¿El organismo receptor es capaz de sobrevivir fuera de las condiciones de cultivo?:

SI

- Capacidad de crear estructuras de resistencia o letargo:

esporas

endosporas

quistes

esclerocios

esporas asexuales (hongos)

esporas sexuales (hongos)

otros, especifíquese

NO

ii) Otros factores que afectan la capacidad de supervivencia:

No procede

iii) Posibles nichos ecológicos:

Vectores flebotominos

iv) Tiempo de generación en ecosistemas naturales:

No procede

h. Efectos posibles sobre el medio ambiente:

i) Implicaciones en procesos ambientales (*p.ej. fijación del nitrógeno o regulación del pH del suelo*):

No muestra ningún efecto.



ii) Interacciones con otros organismos y efectos sobre éstos:

Es el protozoo causante de la leishmaniosis canina y humana en España. Pero como ya hemos comentado, se va a trabajar con la forma promastigote (NO INFECTIVA). Además, este microorganismo no es viable fuera de su hospedador mamífero o invertebrado (*Phlebotomus* y *Lutzomyia*).

i. Distribución geográfica y tipo de ecosistema en el que se encuentra el organismo receptor:

De forma general, su distribución es muy amplia encontrándose en todos los continentes con la excepción de la Antártida. En el caso concreto de *L. infantum*, se encuentra distribuida por todo el Mediterráneo, Medio Oriente, Latinoamérica y partes de Asia. El método de transmisión, generalmente es indirecto a través de moscas de los géneros *Phlebotomus* y *Lutzomyia*, luego los ecosistemas donde se encuentran son zonas cálidas o tropicales donde estos vectores están presentes.

j. Hábitat natural del organismo:

Este microorganismo se localiza en vectores invertebrados (*Phlebotomus* y *Lutzomyia*) y en hospedadores mamíferos como roedores y animales domésticos (perros, gatos, équidos).

2. Organismo(s) donante(s). No completar el punto si no existiese organismo donante o si es el mismo que el organismo receptor.

- | | |
|-----------|-------------------------------------|
| Humanos | <input type="checkbox"/> |
| Animal | <input checked="" type="checkbox"/> |
| Planta | <input type="checkbox"/> |
| Bacteria | <input type="checkbox"/> |
| Hongo | <input type="checkbox"/> |
| Virus | <input type="checkbox"/> |
| Protozoos | <input type="checkbox"/> |

-Especificar el nombre científico y común:

Luciérnaga (*Photynus pyralis*) y Medusa (*Aequorea victoria*).

a. Se trabaja con él durante la actividad:

SI NO

b. La cepa/línea celular donante: ¿está libre de agentes biológicos contaminantes?

SI

– Especificar cómo se sabe que está libre de agentes biológicos contaminantes.

No procede

NO

– Especificar si se conocen o se sospecha cuáles pueden ser.



No procede

c. Modificación genética anterior:

SI

– Describir:

– Cambios en virulencia, patogenicidad, tropismo, toxicidad, otros efectos.

No

d. Se considera patógeno este organismo, vivo o muerto, y/o sus productos intra/extracelulares. (Asignar grupo de riesgo conforme al anexo II de Real Decreto 664/1997 tras evaluación del riesgo específica):

SI Para:

Humanos

Animales

Plantas

Otros

– Posibles efectos alérgicos y/o tóxicos (describir):

NO

e. En el caso de cepas no virulentas de especies patógenas: ¿es posible excluir la reversión a la patogenicidad?

SI

NO

f. Tipo de material genético obtenido del organismo donante (gen codificante o fragmento del mismo. miRNA, lncRNA, etc.):

ADN correspondiente al gen que codifica para luciferasa en el caso de que el organismo donante sea *Photynus pyralis* o la proteína verde fluorescente (GFP) de *Aequorea victoria*.

g. Método de obtención:

– Extracción

– PCR

– Síntesis *in vitro*

h. Función del gen/genes o secuencias en el organismo donante:

ADN correspondiente al gen que codifica para luciferasa. La luciferasa es un término genérico para la clase de enzimas oxidativas relacionadas con bioluminiscencia la cual permite la emisión de luminiscencia cuantificable. La luciferasa consume/oxida el



pigmento luciferina con gasto de ATP (que en la célula suele proceder de la transformación del pirofosfato por el enzima sulfurilasa). La reacción de oxidación libera luz, de color diferente según la composición de la luciferina y luciferasa, lo que explica la producción de varios colores, en distintas especies de organismos. La función de la GFP es dar visibilidad y luz a la medusa mediante la emisión de fluorescencia.

3. ¿Intercambian los organismos donante y receptor material genético de forma natural?

No



IV. INFORMACIÓN RELATIVA A LA MODIFICACIÓN GENÉTICA

1. Objetivo de la modificación genética (sobreexpresión, silenciamiento, otros):

La expresión de estos reporteros (luciferasa o GFP) en promastigotes de *L. infantum* permitirá evaluar la capacidad de activar la transcripción de Pr77.

2. Tipo de modificación genética:

- Inserción de material genético
- Delección de material genético
- Sustitución de bases
- Otros, especifique:

3. Método utilizado para llevar a cabo la modificación genética:

- Transformación
- Electroporación
- Macroinyección
- Microinyección
- Infección
- Transfección
- Fusión celular

Otros, especifique:

4. ¿Se ha utilizado un vector en el proceso de modificación?

SÍ NO

En caso afirmativo:

a. Tipo e identidad del vector (plásmido, virus, otros):

Vector de expresión para *T. cruzi* y *Leishmania*: pTEX. (<https://www.addgene.org/vector-database/4365/>).

i) Aportar mapa de restricción del vector. Indicar las funciones y posición de genes estructurales, genes marcadores, elementos reguladores, sitios de inserción, origen de replicación y cualquier otro elemento presente en el vector.

pTEX es un vector para la transfección de *T. cruzi* y *Leishmania* derivado del vector plasmídico pBSSK+. Al mismo se le incluyó el gen de produce resistencia a neomicina neoR (1913-2698) que permite que los parásitos que portan el vector crezcan en presencia de neomicina fosfotransferasa (G418). En el vector pTEX, el gen neoR, al igual que la secuencia MCS (Multi-Cloning Site) que es diana de diferentes endonucleasas de restricción, para el clonaje de la secuencia de interés, están



flanqueadas por las regiones intergénicas del gen gliceraldehído 3'fosfato deshidrogenasa (GAPDH I). El vector (al derivar de pBSSK) porta un origen de replicación (ori) y el gen de resistencia a ampicilina ampR (4678-5538).

La digestión del vector con los siguientes enzimas daría los siguientes tamaños (kb): *PstI* (4.8, 0.65, 0.2), *BamHI* (5.6), *EcoRI* (5.6), *KpnI* (5.6). (ATCC staff) [Information source: Vector: doi: 10.1093/nar/20.15.3963.

ii) Si se trata de virus:

- Es defectivo en replicación SÍ NO
- Indicar cómo se obtiene el vector viral. Si se utilizan plásmidos para su obtención aportar mapa de restricción del/los plásmidos. Indicar las funciones y posición de genes estructurales, genes marcadores, elementos reguladores, sitios de inserción, origen de replicación, origen, función y secuencia de otros elementos presentes.

b. Gama de hospedadores del vector:

Además de *Trypanosoma cruzi* y *Leishmania spp.*, el vector puede replicarse en bacterias *E. coli* lo cual se usa para obtener cantidad de DNA de plásmido suficiente para clonaje y transfección del parásito.

c. Características de la movilidad del vector:

i) factores de movilización

No posee.

ii) Si el vector es un bacteriófago ¿se han inactivado sus propiedades lisogénicas?

No procede.

iii) ¿Puede el vector transferir marcadores de resistencia a otros organismos?

No.

5. Información de la secuencia insertada, delecionada o modificada.

a. Función específica de cada parte de la secuencia insertada, delecionada o modificada:

b. El gen codificante de luciferasa de luciérnaga (1653pb) o de proteína verde (798 pb) se obtienen por digestión de una construcción anterior (pGEMT-LUC, o pGEMT eGFP) con *BamHI* (que corta inmediatamente anterior a los ATG iniciadores). Posteriormente, los extremos se corrigen con *Klenow* y se digiere de nuevo con el enzima *Sall*, la cual corta corriente abajo del codón de parada de luciferasa o eGFP y se clonarán en el vector pTEX en sustitución del reportero CAT(gen codificante de Cloroanfenicol Acetil Transferasa). Corriente arriba del gen reportero se clonará la secuencia promotora de la transcripción: Pr77 (conservada en tripanosoma y *Leishmania*) intacta así como mutada en distintas posiciones. El clon se secuenciará para confirmación. Se introducirá en la forma no infectiva del parásito mediante electroporación.



>luciferasa (1653pb)

ATGGAAGACGCCAAAAACATAAAGAAAGGCCCGGCCATTCTATCCTCTAGAGGATGGAACCGCTGGAGAGCAACTGCA
TAAGGCTATGAAGAGATACGCCCTGGTTTCTGGAACAATTGCTTTTACAGATGCACATATCGAGGTGAACATCACGTACG
CGGAATACTTCGAAATGTCCGTTCCGTTGGCAGAAGCTATGAAACGATATGGGCTGAATACAAATCACAGAATCGTCGTA
TGCAGTGAAAACCTCTTCAATTCTTATGCCGGTGTGGGCGCGTATTTATCGGAGTTGCAGTTGCCCCCGCAACGA
CATTATAATGAACGTGAATTGCTCAACAGTATGAACATTTCCGACGCTACCGTAGTGTGTTGTTTCCAAAAAGGGGTTGC
AAAAATTTTGAACGTGCAAAAAAATTACCAATAATCCAGAAAATTATTATCATGGATTCTAAAACGGATTACCAGGGA
TTTCAGTCGATGTACACGTTTCGTCACATCTCATCTACCTCCCGGTTTAAATGAATACGATTTTGTACCAGAGTCCTTTGA
TCGTGACAAAACAATTGCACTGATAATGAATTCCTCTGGATCTACTGGGTTACCTAAGGGTGTGGCCCTCCGCATAGAA
CTGCCTGCGTCAGATTCTCGCATGCCAGAGATCCTATTTTTGGCAATCAAATCATTCCGGATACTGCGATTTTAAGTGT
GTTCCATTCCATCACGGTTTTGGAAATGTTTACTACACTCGGATATTTGATATGTGGATTTTCGAGTCGTCTTAATGTATAG
ATTTGAAGAAGAGCTGTTTTTACGATCCCTTCAGGATTACAAAATCAAAGTGCCTGCTAGTACCAACCCATTTTTTCAT
TCTTCGCCAAAAGCACTCTGATTGACAAAATACGATTTATCTAATTTACACGAAATGCTTCTGGGGGCGCACCTCTTTCG
AAGAAGTCGGGAAGCGGTTGCAAAACGCTTCCATCTCCAGGGATACGACAAGGATATGGGCTCACTGAGACTACATC
AGCTATTCTGATTACACCCGAGGGGATGATAAACCGGGCGCGGTTCGGTAAAGTTGTTCCATTTTTTGAAGCGAAGTTG
TGGATCTGGATACCGGAAAACGCTGGGCGTTAATCAGAGAGGGCAATTATGTGTGAGAGGACCTATGATTATGTCCGGT
TATGTAACAATCCGGAAGCGACCAACGCCTTGATTGACAAGGATGGATGGCTACATCTGGAGACATAGCTTACTGGGA
CGAAGACGAACACTTCTTCATAGTTGACCGCTTGAAGTCTTTAATTAATACAAAGGATATCAGGTGGCCCCCGCTGAAT
TGGAAATCGATATTGTTACAACACCCCAACATCTTCGACGCGGGCGTGGCAGGCTTCCCGACGATGACGCCGGTGAACCT
CCCCCGCGGTTGTTGTTTTGGAGCACGGAAGACGATGACGGAAGAGATCGTGGATTACGTCGCCAGTCAAGTAAC
AACCGCGAAAAGTTGCGCGGAGGAGTTGTGTTTTGGACGAAGTACCGAAAAGGCTTACCAGAAAACCTCGACGCAAGAA
AAATCAGAGAGATCCTCATAAAGGCCAAGAAGGGCGGAAAAGTCCAATTGTA

>eGFP

atggtgagcaagggcgaggagctgttcacgggggtggtgcccacctcctggctcgagctggacggcgacgta
aacggccacaagttcagcgtgtccggcgagggcgagggcgatgccacctacggcaagctgaccctgaag
ttcatctgaccaccggcaagctgcccgtgcccctggcccaccctcgtgaccaccctgacctacggcgtg
cagtgcttcagccgctaccccgaccacatgaagcagcagacttcttcaagtcggccatgcccgaaggc
tacgtccaggagcgcaccatcttcttcaaggacgacggcaactacaagaccgcgccgaggtgaagttc
gagggcgacaccctggtgaaccgcatcgagctgaagggcatcgacttcaaggaggacggcaacatcctg
gggcacaagctggagtacaactacaacagccacaacgtctatatcatggccgacaagcagaagaacggc
atcaagtgacttcaagatccgccacaacatcgaggacggcagcgtgcagctcgccgaccactaccag
cagaacacccccatcggcgacggccccgtgctgctgcccgacaaccactacctgagcaccagtcggcc
ctgagcaagaccccaacgagaagcgcgatcacatggtcctgctggagttcgtgaccgcccggggatc
actctcggcatggacgagctgtacaagtaactcagatctcgagctcaagcttcaattctgcagtcgacg
gtaccgcgggcccgggatccaccggatctagataactga

ATG codón de iniciación
TAA codón de terminación

>pTEXLUC (6778pb) Construcción completa

GTA AACGACGGCCAGTGAATTGTAATACGACTCACTATAGGGCGAATTGGAGCTCCACCGCGGCAGTAGCTGCCCTAC
CCACAACACTACTCTAGTCTAGGCACCCTCATTTCATCTATGCGTATCCGCATTCCAGGAAGTGAGCGAAGTTCAACAGT
TGCCAGTTTTCTCAGGAGACTCAAAAAACAGACACAACAGTCTTATTAGACAAGAGCACAAACAAATTTCTCATTGCATT
CAGAAGCAAACAACAAACAAAAACAAATGCGGAAAATACCTCAAATTTATTTTATGTCTGTCTCTACAAATAATAAT
AATAATAATAATAATTACAGCGCGCTAAATGAATGCAAGAAAAGAAACACAAAACCCACAATTGTCAACCTCCCCTTCA
TTCCACTTGTCTCTTTTTCCACGTTTCTGACGAAATGCAGAAAAGTGAATTTTTACTTTTGAAGCCATCTACCAACA
ACAATTACATTGAACAGAATTCTAGAACTAGTGGATCCCCGGGCTGCAGGAATTCGATATCAAGCTGATCCAAATGGAA
GACGCCAAAAACATAAAGAAAGGCCCGGCCATTCTATCCTCTAGAGGATGGAACCGCTGGAGAGCAACTGCATAAGGC
TATGAAGAGATACGCCCTGGTTCTTGAACAATTGCTTTTACAGATGCACATATCGAGGTGAACATCACGTACGCGGAAT
ACTTCGAAATGTCCGTTCCGTTGGCAGAAGCTATGAAACGATATGGGCTGAATACAAATCACAGAATCGTCGTATGCAGT
GAAAACCTCTCTCAATTCTTTATGCCGGTGTGGGCGCGTTATTTATCGGAGTTGCAGTTGCGCCCGCAACGACATTTA
TAATGAACGTGAATTGCTCAACAGTATGAACATTTTCGACGCTACCGTAGTGTGTTGTTTCCAAAAAGGGGTTGCAAAAA
TTTTGAACGTGCAAAAAAATTTACCAATAATCCAGAAAATTTATTCATGGATTCTAAAACGGATTACCAGGGATTTTCAG
TCGATGTACACGTTTCGTCACATCTCATCTACCTCCCGGTTTTAATGAATACGATTTTGTACCAGAGTCCTTTGATCGTGA
CAAAACAATTGCACTGATAATGAATTCCTCTGGATCTACTGGGTTACCTAAGGGTGTGGCCCTTCCGCATAGAAGTGCCT
GCGTCAGATTCTCCGATGCCAGAGATCCTATTTTTGGCAATCAAATCATTCCGGATACTGCGATTTTAAAGTGTGTTCCA
TTCCATCACGGTTTTGGAATGTTTACTACACTCGGATATTTGATATGTGGATTTTCGAGTCGTCTTAATGTATAGATTTGA
AGAAGAGCTGTTTTTACGATCCCTTCAGGATTACAAAATCAAAGTGCCTGCTAGTACCAACCCATTTTTTCATTTCTCG
CCAAAACACTCTGATTGACAAATACGATTTATCTAATTTACACGAAATGCTTCTGGGGCGCACCTCTTTCGAAAGAA



GTCGGGGAAGCGGTTGCAAAACGCTTCCATCTTCCAGGGATACGACAAGGATATGGGCTCACTGAGACTACATCAGCTAT
 TCTGATTACACCCGAGGGGGATGATAAACCGGGCGCGGTTCGGTAAAGTTGTTCCATTTTTTTGAAGCGAAGGTTGTGGATC
 TGGATACCGGGAACCGCTGGGCGTTAATCAGAGAGGCGAATTATGTGTAGAGGACCTATGATTATGTCCGGTTATGTA
 AACAAATCCGGAAGCGACCAACGCCTTGATTGACAAGGATGGATGGGTACATTCTGGAGACATAGCTTACTGGACGAAGA
 CGAACACTTCTTTCATAGTTGACCGCTTGAAGTCTTTAATTAATAACAAGGATATCAGGTGGCCCCGCTGAATTGGAAT
 CGATATTGTTACAACACCCCAACATCTTCGACGCGGGCGTGGCAGGTTCTCCCGACGATGACGCCGGTGAACCTCCCGCC
 GCCGTTGTTGTTTTGGAGCACGGAAAGACGATGACGAAAAAGAGATCGTGGATTACGTCGCCAGTCAAGTAACAACCGC
 GAAAAAGTTGCGCGGAGGAGTTGTGTTGTGGACGAAGTACCGAAAGGTTCTTACCGGAAAACCTGACGCAAGAAAAATCA
 GAGAGATCCTCATAAAGGCCAAGAAGGGCGGAAAGTCCAAATTGTAAGTAAATGTAACGTATTACAGCGATGACGAAATCTT
 AGCTATTGTAATCTCCGAGGCCTCGAGGTCGACCTCGAGCCATTTACGACTCCAAGGCAACGCTGCAGAACAACCTGCC
 GAAGGAGCGCCGCTTCTTCAAGATGTGTCTGGTACGACAACGAGTGGGGATACCCCACCGCGTGGTGGACCTTGTAC
 GCCACATGGCCTCGAAGGATCGTTCGGCAAGGTTGTAGGCGTGGCGATGACTTCAGGTTCTTTTTCGCAATAGGGATC
 TTATAATACACGATGCGTGTCCCGTGTATCGTTACCGGTGCTGCCACGATCCAATTGACACAGCGTCAAGAGCAAAAC
 AATTTTACTTTTTCCCTTTAAGGACAACAACAAAAAATATATAACTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAATTTATAT
 TTATGGTTCATCTTTGGGAAACAAAAAGCAGCAATTTAATGATGCGGAAGGATGAGTGAAATAATGTTAATCAATGTACG
 AGGATTTGGGGTATTGCAAGGAAAAATGTAGATGATTTAATTTGGGTGTGTGATGCAGCTTGTGGTAATTTTTTGTCACTTC
 CCTTTTCCACATCTTTTTAGTTTTTCTGCTTTTTCTTTCCCATTTATCCACTTGTCTCTCTTTTCCACGTTTCCCTGC
 ACGAATGCAGAAAGTGATATTTTTACTTTGAAAGCCTCTACCAACAACAATTACATTTGAACAGAATTTGGGATTGCGAA
 TTAATTCCTGCAGCCCCGCGTGTGGCTCGAACACCGAGCGACCTTCAGCCAATATGGGATCGGCCATTGAACAAGATG
 GATTGACCGCAGGTTCTCCGGCCGCTTGGGTGGAGAGGCTATTCGGCTATGACTGGGCACAACAGACAATCGGCTGCTCT
 GATGCCGCCGTTTCCGGCTGTCAGCGCAGGGGCGCCCGGTTCTTTTGTCAAGACCGACCTGTCCGGTGCCCTGAATGA
 ACTGCAGGACGAGGCGAGCGCGGCTATCGTGGCTGGCCACGACGGGCGTTCCTTGGCAGCTGTGCTCGACGTTGTCACTG
 AAGCGGAAGGGACTGGCTGCTATTGGGCGAAGTCCCGGGCAGGATCTCCTGTCTCTCACCTTGCTCCTGCCGAGAAA
 GTATCCATCATGGCTGATGCAATGCGGCGGCTGCATACGCTTGTATCCGGCTACCTGCCCATTCAGCCACAAGCAAAACAT
 CGCATCGAGCGAGCAGTACTCGGATGGAAGCCGGTCTTGTGATCAGGATGATCTGGACGAAGAGCATCAGGGGCTCGC
 GCCAGCCGAACCTGTTCCGACGGCTCAAGGCGCGCATGCCGACGGCAGGATCTCGTCTGACCCATGGCGATGCCTGCT
 TGCCGAATATCATGGTGGAAAATGGCCGCTTTTTCTGGATTTCAGCTGTGGCCGGTGGGTGTGGCGGACCGCTATCAG
 GACATAGCGTTGGCTACCCGTGATATTGCTGAAGAGCTTGGCGGCGAATGGGCTGACCGCTTCTCTGTGCTTTACGGTAT
 CGCCGCTCCCGATTCCGAGCGCATCGCCTTCTATCGCCTTCTTGACGAGTTCTTCTGAGGGGATCGATCCGGAACAACCT
 GCCGAAGGAGCGCCGCTTCTTCAAGATTGTGTCTGGTACGACAACGAGTGGGGATACTCCCACCGTGGTGGACCTTGT
 TACGCCACATGGCCTCGAAGGATCGTTCGGCAAGGTTGTAGGCGTGGCGATGACTTCAGGTTCTTCTTTCGCAATAGGG
 ATCTTATAATACACGATGCGTGTCCCGTGTATCGTTACCGGTGCTGCCACGATCCAAGTGACACAGTGTCAAGAGCAA
 AACAAATTTACTTTTTCCCTTTAAGGACAACAACAAAAAATATATAACTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTTGAATTTATAT
 TTATGGTTCATCTTTGGGAAACAAAAAGCAGCAATTTAATGATGCGGAAGGATGAGTGAAATAATGTTAATCAATGTACG
 AGGATTTGGGGTATTGCAAGGAAAAATGTAGATGATTTAGTTGGGTGTATGATGCAGCTTGTGGTAATTTTTTACAACCTTT
 CGGTTATTGGAAGATTTTGGTTGTTTCACTTTCTTTTGTTTATAACTGACTGTTTTAATTTAGTGTGATTTTTTTTTTTT
 AAGGATTTAAGCTGTTTTTCTTTTTTTTTTTTTTTTTCTTTTCACTGATGGTGTAAAGGTGATGTTTGTGTTTGTGCTTAT
 GCGTCTAGTGTGTTGTTCTTTGGACTTTTTCGAACAAATACTGGGCATTATAGCCACCTGTGTATATGCCGCTAGAGT
 ATGCTAGCCGTGTGGGTACCCAGCTTTTGTTCCTTTAGTGAGGGTTAATTTTCAGCTTGGCGTAATCATGGTTCATAGCT
 GTTTCCTGTGTGAAATGTTATCCGCTCACAATTCACACAACATACGAGCCGGAAGCATAAAGTGTAAAGCCTGGGGTG
 CCTAATGAGTGAGCTAACTCACATTAATTGCGTTGCGCTCACTGCCCGCTTTCAGTCCGGGAAACCTGCTGTGCCAGCTG
 CATTAATGAATCGGCCAACGCGCGGGGAGAGGCGGTTTGCATTTGGGCGCTCTCCGCTTCTCTCGTCACTGACTCGCT
 CGCTCGGTCGTTCCGCTGCGGCGAGCGGATACAGTCACTCAAAGCGGTAATACGTTATCCAGAATGACTGAGGGGATA
 ACCGAGAAAGAACATGTGAGCAAAAGGCCAGCAAAAGCCAGGAACCGTAAAAAGCCGCGTGTGCGGTTTTTTCAT
 AGGCTCCGCCCCCTGACGAGCATCACAATAATCGACGCTCAAGTCAAGGAGGTTGGCGAAACCCGACAGGACTATAAAGATA
 CCAGGCGTTTTCCCTTGAAGCTCCCTCGTGCCTCTCCTGTTCCGACCCCTGCCGTTACCGGATACCTGTCCGCCTTTC
 TCCCTTCGGGAAGCGTGGCGTTTTCTCATAGCTCAGCTGTAGGTATCTCAGTTCCGTGTAGGTCGTTCGCTCCAAGCTG
 GGCTGTGTGCACGAACCCCGTTCAGCCGACCGCTGCGCCTTATCCGGTAACATATCGTCTTGTGTTCAACCCGGTAAAG
 ACACGACTTATCGCCACTGGCAGCAGCCACTGGTAACAGGATTTAGCAGAGCGAGGATGATGAGGCGGTGTACAGAGTTCT
 TGAAGTGGTGGCTAACTACGGCTACACTAGAAGGACAGTATTGGTATCTGCGCTTGTGTAAGCTGTTACCTTCCGGA
 AAAAGAGTTGGTAGCTTTGATCCGGCAAACAACCACCGCTGGTAGCGGTGGTTTTTTTTGTTTGAAGCAGCAGATTAC
 GCGCAGAAAAAAGGATCTCAAGAAGATCCTTTGATCTTTTCTACGGGTCTGACGCTCAGTGAACGAAAACCTCACGTT
 AAGGGATTTTGGTTCATGAGATTATCAAAAAGGATCTTACCTAGATCCTTTTTAATTTAAAATGAAGTTTTAAATCAATC
 TAAAGTATATATGAGTAACTTGGTCTGACAGTTACCAATGCTTAATCAGTGAGGCACCTATCTCAGCGATCTGTCTATT
 TCGTTTATCCATAGTTGCCTGACTCCCCGTCGTGTAGATAACTACGATACGGGAGGGCTTACCATCTGGCCCCAGTGCCTG
 CAATGATACCCGAGACCCACGCTCACCGGCTCAGATTTATCAGCAATAAACCAGCCAGCCGGAAGGGCCGAGCGCAGA
 AGTGGTCTCGCACTTTATCCGCTCCATCCAGTCTATTAATTTGTTGCCGGAAGCTAGAGTAAGTAGTTTCCGCAAGTTAA
 TAGTTTGGCAACGTTGTTGCCATTGCTACAGGCATCGTGGTGTACGCTCGTCTTGGTATGGCTTCATTACAGCTCCG
 GTTCCCAACGATCAAGGCGAGTTACATGATCCCCATGTTGTGCAAAAAAGCGGTTAGCTCCTTCGGTCTCCGATCGTT
 GTCAGAAGTAAGTTGGCCGAGTGTATCACTCATGTTATGGCAGCACTGCATAATTCTCTTACTGTATGCCATCCGT
 AAGATGCTTTTTCTGTGACTGGTGTACTCAACCAAGTCAATCTGAGAATAGTGTATGCGGCGACCGAGTTGCTCTTGCC
 CGGCGTCAATACGGGATAATACCGGCCACATAGCAGAATTTAAAAGTGTCTATCATTGGAAAACGTTCTTCGGGGCGA
 AAACCTCAAGGATCTTACCGCTGTGAGATCCAGTTCAGTGAACCCACTCGTGCACCAACTGATCTTCAGCATCTTT
 TACTTTACCAGCGTTTTCTGGGTGAGCAAAAACAGGAAGCAAAATGCCGCAAAAAGGGAATAAGGGCGACACGGAAAT



GTTGAATACTCATACTCTTCCTTTTCAATATTATGAAGCATTTCAGGGTTATGTCTCATGAGCGGATACATATTT
GAATGTATTTAGAAAAATAAACAAATAGGGGTTCCGCGCACATTTCCCCGAAAAGTGC

Vector pTEX
Luciferasa
neoR

GFP sustituiría a luciferasa en este clon en caso de ser necesario

c. Información sobre los genes estructurales:

Gen reportero Luciferasa y gen de resistencia a neomicina (en el apartado anterior se describe su secuencia).

d. Información sobre los elementos reguladores:

La expresión del reportero depende de la secuencia 5'GAPDH del propio vector y que se localiza corriente arriba de la secuencia codificante de luciferasa.

e. ¿Ha sido secuenciada?

Sí.

f. ¿Contiene secuencias que no son necesarias para la función deseada? En caso afirmativo, especifíquese.

No.

g. ¿Contiene secuencias cuya función es desconocida? En caso afirmativo, especifíquese.

No.

6. Si se ha utilizado un vector, ¿cuál es su situación final en el OMG?

a. Si el vector es un plásmido

i) Se pierde

ii) Se inserta en el genoma

- Aleatoriamente

- En un sitio definido

o Localización cromosómica:

o Secuencias colindantes:

o La inserción activa o inactiva la expresión de otros genes:

iii) Se mantiene en forma episómica

- Número de copias:



Depende de la presión de neomicina. Se obtienen transfectantes estables bajo una determinada presión de antibiótico (neomicina).

- Se dispone de información sobre la estabilidad del vector

Mediante presión con antibiótico (neomicina) se obtienen transfectantes estables no integrativo (el DNA de plásmido se mantiene en el citoplasma), en el momento que se elimina la presión con antibiótico el parásito no necesita replicar el plásmido y lo elimina.

b. Si el vector es un virus:

i) Se mantiene en forma episómica

ii) Se inserta en el genoma

- La inserción se produce al azar

- La inserción es específica

o Localización cromosómica:

No es integrativo.

o Secuencias colindantes:

o La inserción activa o inactiva la expresión de otros genes:

iii) Existe la posibilidad de formación de partículas víricas. Justificar:

No.

c. Análisis moleculares previstos relativos a la expresión del producto deseado (*PCR, Southern, Northern, secuenciación, otros*):

i) Determinación de la estructura del inserto (secuenciación)

ii) Transcripcionales (nivel de síntesis de mRNA)

iii) Traduccionales (nivel de síntesis de proteínas)



V. **INFORMACIÓN RELATIVA AL ORGANISMO MODIFICADO GENÉTICAMENTE (OMG)**

1. Descripción del OMG final

Formas promastigotes de *L. infantum* (NO INFECTIVAS) que contienen mediante electroporación un plásmido episomal cuya estructura, de forma general, consiste en un gen reportero de luciferasa o GFP. Además, contiene el gen que confiere resistencia a neomicina, así como también un origen de replicación, todo ello en el vector pTEX de tripanosomátidos que deriva del vector pBSSK.

2. Características genéticas y fenotípicas modificadas del organismo receptor como resultado de la manipulación genética:

- a. ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a la capacidad de supervivencia fuera de las condiciones de cultivo? En caso afirmativo, especifíquese:

No.

- b. ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta al modo o tasa de reproducción? En caso afirmativo, especifíquese:

No.

- c. ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a la patogenicidad para el ser humano, plantas o animales? En caso afirmativo, especificar:

No

- d. ¿Es diferente el OMG del receptor en lo que respecta a los posibles efectos sobre el medio ambiente? En caso afirmativo, especifíquese:

No

- e. ¿Es diferente el OMG en cuanto a las características nutricionales? En caso afirmativo, especifíquese:

No

- f. Marcadores específicos del OMG:

Expresión de luciferasa o de GFP

3. Información sobre la estabilidad genética previsible del OMG (*Estado y secuencia del inserto después de un cierto número de generaciones*):

La permanencia del plásmido en el citoplasma del parásito transformado es dependiente de la presión de antibiótico seleccionador (neomicina). Si no existe esta presión el epimastigote no replicará el plásmido pues no lo necesita para sobrevivir.

4. Posibilidad de transferencia de material genético a otros organismos. Justificar:

Ninguna.

5. Descripción de métodos de identificación y aislamiento planificados:

- a. Técnicas utilizadas para la identificación del OMG:



Detección de la expresión de luciferasa mediante ensayos de luciferasa por detección de bioluminiscencia en presencia de luciferina y ATP, empleando el kit comercial *Luciferase Assay System* (Promega®). Además, se corrobora la presencia del material genético introducido mediante RT-PCR para la amplificación específica de una región del mRNA de luciferasa y medir expresión de mRNA del reportero. Detección de la expresión de GFP mediante ensayos de microscopia.

- b. Técnicas empleadas para aislar el OMG en el medio ambiente:

El OMG no se encuentra en el medio ambiente por lo que no hay necesidad de su aislamiento.



VI. DESCRIPCIÓN DE LAS OPERACIONES

1. Descripción de la actividad. (Breve resumen de los ensayos que se prevén realizar, incluidos los que se llevarán a cabo con el OMG).

Parásitos que expresen el reportero luciferasa nos permitirán evaluar la capacidad de activación de la transcripción del promotor Pr77 de tripanosomátidos. Para confirmar la presencia de luciferasa, así como también evaluar la expresión de dicho reportero realizaremos varias aproximaciones:

Secuenciación: para corroborar que la secuencia de la construcción a transfectar era correcta, se llevó a cabo la secuenciación de dicha construcción usando *primers* que mapean en el plásmido.

Transcripcionales: para determinar la expresión de mRNA luciferasa, se llevarán a cabo ensayos de *northern-blot* y RT-PCR usando RNA total extraído de cultivos transfectados de formas promastigotes de *L. infantum*. En el caso del *northern-blot*, se usarán sondas radiactivas (marcadas internamente con αATP^{32}) que hibridan en la región codificante del reportero. Y para la RT-PCR, se usarán *primers* específicos tanto para la síntesis de cDNA como para la amplificación posterior por PCR.

Traduccionales: para determinar la expresión del reportero a nivel de proteína, se llevará a cabo un ensayo de medida de la luminiscencia emitida debida a luciferasa empleando kit comercial de Promega.

2. Información sobre el volumen o cantidad de OMG a utilizar:
 - a. Volumen o concentración máxima por ensayo en el caso de microorganismos.

- i) Para preparación de lotes

~ 1×10^9 parásitos (como máximo).

- ii) Para Inoculaciones. Método de inoculación *in vitro/ in vivo*:

No se llevarán a cabo

- b. Número aproximado de plantas por ensayo:

- c. Número aproximado de animales por ensayo:

3. Naturaleza de las operaciones:

- a. Enseñanza
- b. Investigación
- c. Desarrollo

4. Periodo previsto para la actividad de utilización confinada:

(Debe concretarse lo más posible la duración de la actividad, por ejemplo, teniendo en consideración la duración de la financiación de los proyectos a los que están asociados las actividades con los OMG).



Está previsto que dichas actividades sean realizadas durante el periodo de duración del siguiente proyecto:

Título: Proyectos de Excelencia PAIDI 2020-convocatoria 2021. “Control de la leishmaniosis: perfil funcional, fenotípico y de expresión génica de la respuesta inmunológica celular asociada al control de la infección por *Leishmania infantum*”.

Entidad financiadora: Junta de Andalucía. 12/2022-12/2025.

Referencia: ProyExcel_00852. **IP:** M.C. Thomas & M.C. López.

VII. EVALUACIÓN DE RIESGO

Se tendrán en cuenta los elementos y el procedimiento conforme al Anexo I del Real Decreto 178/2004 de 30 de enero, por el que se aprueba el Reglamento general para el desarrollo y ejecución de la Ley 9/2003, de 25 de abril, y la Decisión de la Comisión 2000/608/CE, de 27 de septiembre, relativa a las notas de orientación para la evaluación de riesgo).

1. Identificar cómo pudieran afectar las posibles propiedades nocivas del organismo receptor, donante, inserto y vector al OMG que se va a generar:

(Desarrollar con la extensión que proceda, siguiendo el orden propuesto).

- a. Organismo receptor.

El OMG generado no tienen más propiedades nocivas que las propias del organismo receptor *Leishmania infantum*

- b. Organismo donante.

Photynus pyralis y Aequorea victoria no poseen propiedades nocivas

- c. Inserto.

Las secuencias del gen reportero luciferasa de luciérnaga (*Photynus pyralis*) o GFP de *Aequorea victoria* no poseen propiedades nocivas y no afecta a las propiedades nocivas del OMG

- d. Vector.

Plásmido comercial pTEX (<https://www.addgene.org/vector-database/4365/>) no posee propiedades nocivas)

2. Identificar las posibles propiedades nocivas del OMG⁵

- a. Efectos para la salud humana y la sanidad animal y vegetal.

Es un organismo patógeno de tipo 3, aunque la forma a utilizar (promastigote) NO ES INFECTIVA).**

- b. Efectos para el medio ambiente.

3. Descripción de las fases críticas de los ensayos en cuanto a bioseguridad):

⁵. Si se considera que no tienen efectos adversos para la salud y el medio ambiente, también hay que justificarlo.



Cultivo, electroporación y extracción de DNA, RNA y lisados de proteínas totales. Más en detalle, la forma promastigote de *L. infantum* (forma unicelular no infectiva) se cultivará *in vitro* en instalaciones con nivel de bioseguridad NCB3 del IPBLN. Todo el personal está entrenado a tal efecto para cumplir con la normativa actual vigente en la instalación, en cuanto a la manipulación de otros microorganismos tipo 3. Para el cultivo de promastigotes de *L. infantum*, se trabajará en frascos de cultivo no ventilados. Para los diversos análisis moleculares a realizar (anteriormente descritos), los parásitos se recolectarán mediante centrifugación y lisarán con NP40 y SDS en el interior de la cabina de seguridad biológica clase II de la instalación para obtener la fracción citoplasmática y de ahí purificar el mRNA y/o el extracto proteico.

4. Descripción de las medidas de confinamiento y protección que vayan a aplicarse en las diferentes fases:

Todo el trabajo relativo a manipulación del OMG, se llevará a cabo en la instalación de biocontención NCB3 del IPBLN, autorizada con nº de notificación A/ES/19/I-17. El trabajo con parásitos vivos se realiza siempre en cabinas de seguridad biológica de clase II. Los tubos u otros contenedores que contengan parásitos vivos no pueden abrirse fuera de la cabina. Se deben utilizar doble guantes protectores y batas hidrófobas siempre que se manejen parásitos vivos. Si es necesario centrifugar, se utilizan tubos sellados y en centrifugas con cestillos de seguridad. Está prohibido el uso de objetos que puedan ser cortantes o punzantes (vidrio o metal).

VIII. DESCRIPCIÓN DE LAS MEDIDAS DE PROTECCIÓN Y CONTROL ADOPTADAS DURANTE LA UTILIZACIÓN CONFINADA⁶

1. Adopción de las Buenas Prácticas de Laboratorio:

-El personal autorizado deberá entrar con ropa y calzado exclusivos siguiendo los protocolos de trabajo diseñados en dicha instalación.

- Se prestará especial atención para evitar la contaminación a través de la piel, por lo que es obligatorio llevar guantes cuando se manipule el material.

-Está prohibido el uso de objetos cortantes o punzantes en los procedimientos con los organismos vivos.

- Todos los residuos del laboratorio deben ser descontaminados adecuadamente antes de su eliminación.

2. Formación del personal adscrito:

- Para poder trabajar en esta salas, se deberá comunicar al responsable de Seguridad Biológica el tipo de agente biológico con el que van a trabajar, así como los posibles riesgos que puede implicar su manipulación.

⁶ En el caso de que la actividad se realice en una instalación ya autorizada, se deberán describir las medidas de protección adicionales a las descritas en el formulario B que se presentó en la solicitud para la autorización de la instalación, teniendo en cuenta el riesgo específico de la actividad.



- El acceso a estas salas está restringido a personal autorizado y debidamente adiestrado para ello mediante una formación teórica y práctica de los protocolos y procedimientos de trabajo diseñados para trabajar en esta instalación.

3. Programas de limpieza/desinfección/descontaminación:

Información detallada en la parte B relativa a la Instalación que ya fue aportada para el expediente de con nº de notificación A/ES/19/I-17, por lo que no será aportada en este caso.

4. Programas de mantenimiento de los sistemas de confinamiento y protección:

Información detallada en la parte B relativa a la Instalación que ya fue aportada para el expediente de con nº de notificación A/ES/19/I-17, por lo que no será aportada en este caso.

5. Programas de verificación y validación de los sistemas de confinamiento y protección:

Información detallada en la parte B relativa a la Instalación que ya fue aportada para el expediente de con nº de notificación A/ES/19/I-17, por lo que no será aportada en este caso.

IX. GESTION E INACTIVACIÓN DE RESIDUOS

1. Encargado de la gestión de residuos:

a. Gestión interna: SÍ X NO

- Método de inactivación, forma final, destino de cada uno de los tipos de residuos generados:

En el caso de residuos sólidos, tras inactivarlos con hipoclorito o Virkon, serán depositados tanto en bolsas de autoclave como en contenedores de desechos pequeños que el responsable interno del Servicio de Lavado y Esterilización del IPBLN se encargará retirar diariamente y autoclavar, para posteriormente ser retirados por la empresa externa STERYCYCLE que procederá a su gestión final.

Los residuos líquidos serán recogidos en contenedores mediante un sistema de aspiración de líquidos ubicado en el interior de la CSB. Tienen un recipiente de 2 l de capacidad, siendo autoclavable y permite el seguro intercambio de la botella.

Los residuos líquidos inactivados con hipoclorito y virkon, se verterán por la pila del sistema BIOWASTE evitando salpicaduras.

b. Gestión por una empresa externa: SÍ X NO

- Nombre de la empresa externa encargada de la gestión de los residuos:

STERYCYCLE

X. PREVENCIÓN DE ACCIDENTES DE LA ACTIVIDAD NOTIFICADA

1. Condiciones en las que podría producirse un accidente:

Se prestará especial atención para evitar la contaminación a través de la piel, por lo que es obligatorio llevar guantes cuando se manipule el material.

-Está prohibido el uso de objetos cortantes o punzantes en los procedimientos con los organismos vivos.



2. Equipamiento de seguridad (especifíquese):

Información detallada en la parte B relativa a la Instalación que ya fue aportada para el expediente de con nº de notificación A/ES/19/I-17, por lo que no será aportada en este caso

3. Descripción de la información y formación suministrada a los trabajadores:

Para poder trabajar en esta salas, se deberá comunicar al responsable de Seguridad Biológica el tipo de agente biológico con el que van a trabajar, así como los posibles riesgos que puede implicar su manipulación.

- El acceso a estas salas está restringido a personal autorizado y debidamente adiestrado para ello mediante una formación teórica y práctica de los protocolos y procedimientos de trabajo diseñados para trabajar en esta instalación. Información detallada en la parte B relativa a la Instalación que ya fue aportada para el expediente de con nº de notificación A/ES/19/I-17.

4. Planes de emergencia y contingencia:

Información detallada en la parte B relativa a la Instalación que ya fue aportada para el expediente de con nº de notificación A/ES/19/I-17, por lo que no será aportada en este caso.